*Vestnik zoologii*, **41**(2): 123–129, 2007


УДК 593.16

# *COLPODELLA PSEUDOEDAX* SP. N. (COLPODELLIDA, PROTISTA) — НОВЫЙ АЛЬВЕОЛЯТНЫЙ ХИЩНЫЙ ЖГУТИКОНОСЕЦ

**А. П. Мыльников, А. А. Мыльников**

*Институт биологии внутренних вод РАН, пос. Борок,*
*Некоузский р-н, Ярославская обл., 152742 Россия*
*E-mail: mylnikov@ibiw.yaroslavl.ru*

Принято 30 января 2007

***Colpodella pseudoedax* sp. n. (Protista, Colpodellida) — новый альвеолятный хищный жгутиконосец. Мыльников А. П., Мыльников А. А.** — В клетке хищного пресноводного жгутиконосца *Colpodella pseudoedax* sp. n. обнаружены два жгутика, трехмембранная пелликула, микропоры, субпелликулярные микротрубочки, микротрубочковый коноид, роптрии, стрекательные органеллы типа палочковидных трихоцист, митохондрии с трубчатыми и везикулярными кристами. Тонкостенный цилиндр отмечен в переходной зоне жгутиков. Жизненный цикл включает в себя вегетативную стадию и цисты покоя. Новый вид отличается от сходного вида *Colpodella edax* (Klebs, 1892) Simpson and Patterson, 1996 меньшим размером клетки и отсутствием цисты размножения.

Ключевые слова: Protista, Alveolata, Apicomplexa, Colpodellida, морфология, ультраструктура, хищничество, *Colpodella pseudoedax* sp. n

***Colpodella pseudoedax* sp. n. (Protista, Colpodellida) — a New Alveolate Carnivorous Flagellate. Myl'nikov A. P., Myl'nikov A. A.** — The cell of carnivorous freshwater flagellate *Colpodella pseudoedax* sp. n. has two flagella, three-membrane pellicle, micropore, subpellicular microtubules, microtubular conoid, roptries, extrusive organelles of rod-like type, mitochondria with tubular and vesicular cristae. The thin-walled cylinder is present in the transitional zone of flagella. The life cycle consists of vegetative stage and rest cyst. The new species differs from closely related *Colpodella edax* (Klebs, 1892) Simpson and Patterson, 1996 by smaller cell dimensions and absence of reproductive cyst.

Key words: Protista, Alveolata, Apicomplexa, Colpodellida, morphology, ultrastructure, predatory, *Colpodella pseudoedax* sp. n.

## Введение

Хищные жгутиконосцы колподеллиды (Colpodellida Cavalier-Smith, 1993; syn. Spiromonadida Krylov et Mylnikov, 1986) широко распространены в пресных и морских водоемах (Klebs, 1892; Жуков, 1993; Мыльников, 1983, 1991; Patterson, Simpson, 1996). Наиболее обычны они для очистных сооружений (Hänel, 1979). Известно, что колподеллиды подобно некоторым динофитовым и в отличие от многих других хищных жгутиконосцев не заглатывают клетки жертвы (протистов), а «высасывают» частично или полностью их содержимое (Brugerolle, Mignot, 1979; Brugerolle, 2002; Foissner, Foissner, 1984). В литературе имеются крайне отрывочные сведения о морфологии и биологии данной группы протистов. Колподеллиды, являясь активными хищниками, играют определенную роль как консументы мелких протистов. Большинство исследователей к колподеллидам относят представителей рода *Colpodella* Cienkowski, 1865, который насчитывает 10 валидных видов (Simpson, Patterson, 1996). Среди них стоит упомянуть широко распространенного пресноводного жгутиконосца *Colpodella edax* (Klebs, 1892) Simpson et Patterson, 1996. Ранее была исследована биология и морфология данного вида с помощью светового микроскопа (Мыльников, 1988). Сходный жгутиконосец недавно выделен из проб пруда. Оказалось, что жизненный цикл этого клона отличается от такового у *C. edax*. Данное исследование проведено с целью установления сходства и различий этих двух жгутиконосцев.

## Материал и методы

Чистая культура хищного жгутиконосца выделена из донных проб небольшого пруда вблизи пос. Борок Ярославской обл. (Россия) 13 мая 2002 г. В качестве пищи использовали культуру бак-

териотрофных жгутиконосцев *Spumella* sp. (клон OF–40). Культивирование хищников проводили в среде Пратта (Мыльников, 1988, 1991). Исследовали клон BE-2, полученный из культуры путем прямого отсаживания одной клетки. Данный клон хранится в коллекции живых культур протистов группы протозоологии Института биологии внутренних вод РАН (Борок).

Для наблюдений использовали микроскопы МБИ–3 с фазово-контрастной установкой КФ–5 в проходящем свете и Reichert (Austria), который снабжен системой интерференционного контраста. В качестве фиксаторов применяли пары осмиевой кислоты и реактив Шаудина. Микрофотографирование проводили с использованием цифровой фотокамеры Olympus C–5000.

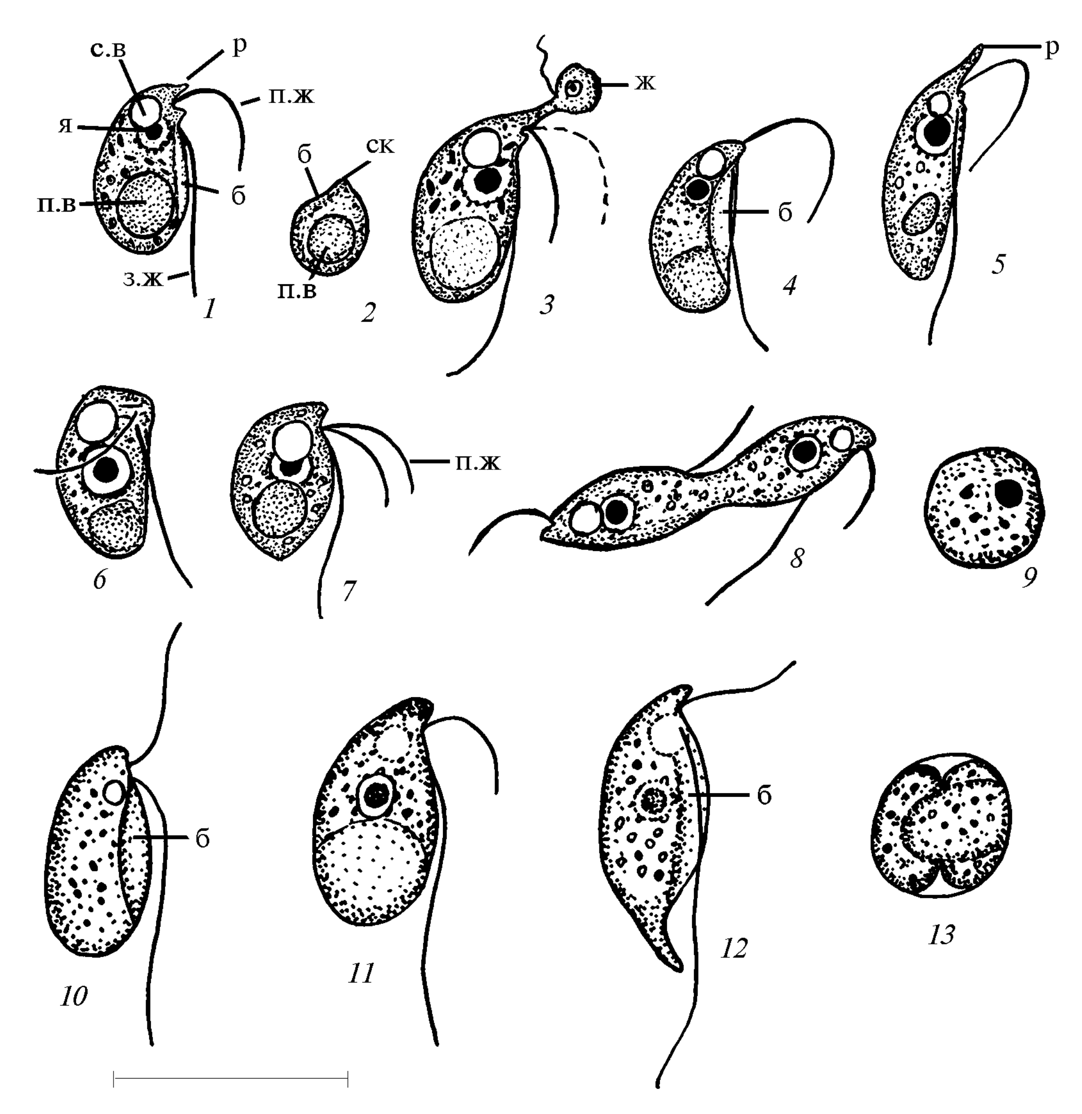
Для электронно-микроскопического изучения взвесь жгутиконосцев сгущали центрифугированием и фиксировали в смеси 2%-ной $OsO_4$ и 0,6%-ного глутаральдегида, приготовленной на 0,05 М какодилатном буфере, в течение 15–30 мин при температуре 1°C. После дегидратации в серии спиртов и безводного ацетона объект помещали в смесь смол Аралдита и Эпона. Исследование проводили на трансмиссионном микроскопе (ТЭМ) JEM–100 C. Для работы со сканирующим электронным микроскопом (СЭМ) суспензию клеток осаждали на покровное стекло, которое погружали в фиксатор Шаудина. Стекла обезвоживали в 96°-ном спирте и ацетоне и высушивали в аппарате критической точки с помощью углекислоты. Высушенные препараты напыляли палладием-золотом и просматривали в микроскопе JSM–25 (фирма JEOL, Япония). Деформацию клеток учитывали при интерпретации микрофотографий (Мыльников и др., 1998).

## Результаты

Биология клона BE–2. В чашке Петри клетки клона BE–2 обычно быстро плавали по зигзагообразной траектории и нападали на мелких бодонид и бесцветных хризомонад (в свежих пробах). Форма тела клетки бобовидная или овальная с заостренным передним концом, который у таких организмов называется рострумом (рис. 1, *1, 5*; 2, *1, 3, 5*). Передний жгутик совершает взмахи и направлен латерально и вперед. Задний жгутик проходит вдоль продольной бороздки и ундулирует в своей дистальной части. Бороздка ограничена складкой (рис. 1, *1, 2*; 4, *2*) и заметна не у всех клеток. Форма тела клетки зависела от пищевого состояния клетки. Сытые особи имели расширенный задний конец, голодные — заостренный (рис. 1, *1, 2, 5*). При соприкосновении с клеткой жертвы хищник прекращает плавание. Затем между рострумом хищника и клеткой жертвы образуется цитоплазматический мостик (рис. 1, 3). Через него содержимое жертвы в течение 3–5 минут переходит в заднюю часть тела хищника, где образуется одна крупная пищеварительная вакуоль (рис. 1, *1–4*). Одну и ту же жертву могут высасывать одновременно два хищника. Нападение хищников друг на друга (каннибализма) не наблюдалось. После окончания питания клетка жертвы разрушается, и хищник начинает плавать. Сытая особь оседает на дно и становится малоподвижной (рис. 1, *6*). Передний жгутик соприкасается с поверхностью клетки и малоподвижен. Затем происходит удвоение жгутиков и продольное деление клетки (рис. 1, *7, 8*). По мере старения культуры и выедания всех клеток жертв образуются сферические цисты покоя диаметром 5,0–6,7 мкм (рис. 1, *9*; 2, *7*). После эксцистирования клетка разрывает тонкостенную оболочку цисты (рис. 2, *8*). Время удвоения численности хищников при 20–22°C составляет 10–14 часов.

Морфология. Длина клеток составляет 7–10 мкм, ширина — 3–5 мкм. Передний жгутик равен 1/3–1/2 длины тела, а задний на 1/3 длиннее тела клетки. Оба жгутика отходят немного ниже заостренного переднего конца клетки (рострума). Крупная сократительная вакуоль располагается вблизи базальных тел жгутиков ниже рострума (рис. 1, *1–5*, рис. 2, *2, 4*). Ядро лежит в передней части клетки около сократительной вакуоли, реже в центре клетки (рис. 1, *1–5;* 2, *1*). Каждый жгутик отходит из отдельного жгутикового кармана (рис. 2, 6).

Ультраструктура (рис. 3). Продольный срез клетки представлен на рисунке 3, *1*. Ниже заостренного рострума заметна кинетосома переднего жгутика. Сократительная вакуоль имеет диаметр 1,5–1,8 мкм (рис. 3, *1*). Ядро диамет-



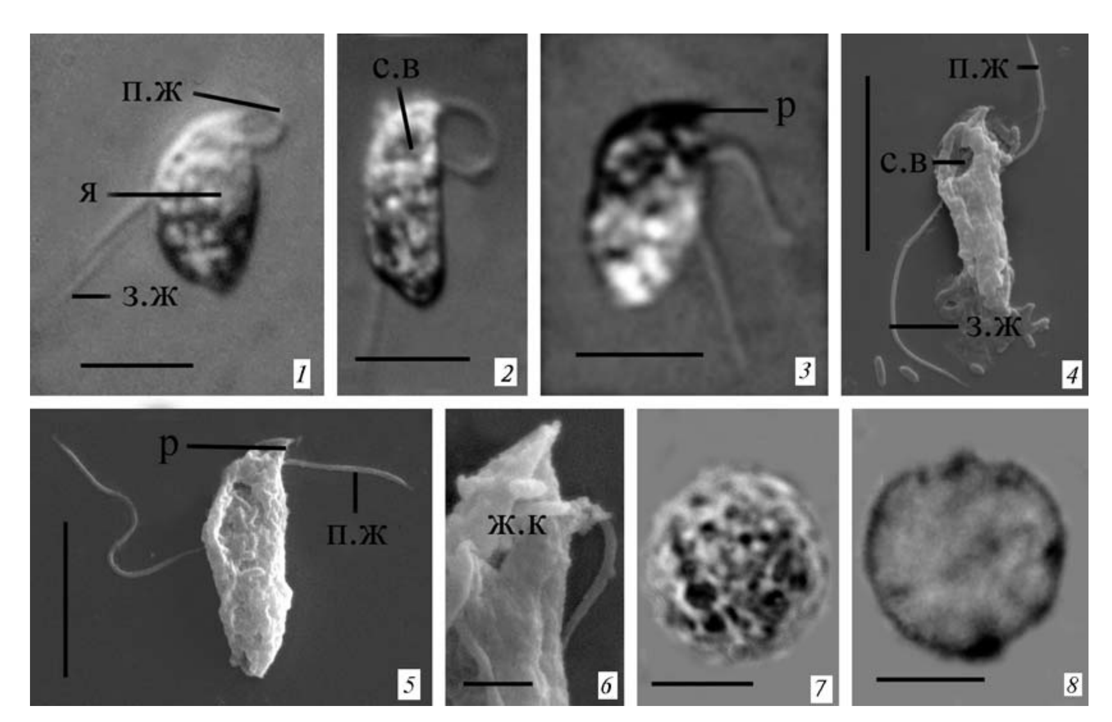

Условные обозначения: б — бороздка; ж — жертва (*Spumella* sp.); з.ж — задний жгутик; п.в — пищеварительная вакуоль; п.ж — передний жгутик; р — рострум; с.в — сократительная вакуоль; ск — складка; я — ядро.

Рис. 1. Морфология клеток *C. pseudoedax* sp. n. (*1—9*) и *C. edax* (*10—13*): *1* — типичная плавающая клетка; *2* — вид клетки с ее заднего конца; *3* — клетка, поглощающая жертву; *4, 5* — голодающие особи; *6—8* — деление клеток; *9* — циста покоя; *10* — клетка *C. edax* (по: Klebs, 1892); *11—13* — клетка *C. edax* (по: Мыльников, 1988). Масштабная линейка 10 мкм.

Fig. 1. The cell morphology of *Colpodella pseudoedax* sp. n. (*1—9*) and *C. edax* (*10—13*): *1* — the typical swimming cell; *2* — the cell view from posterior end; *3* — the cell uptaking a prey; *4, 5* — starving cells, *6—8* — the cell fission; *9* — a rest cyst; *10* — the cell of *C. edax* (after: Klebs, 1892); *11—13* — the cell *C. edax* (after: Mylnikov, 1988). Scale bar 10 mkm.

ром 2,0 — 3,5 мкм с крупным ядрышком располагается в центре клетки, а пищеварительная вакуоль в заднем конце клетки. Тело клетки покрыто трехслойной пелликулой толщиной 30 нм армированной микротрубочками (рис. 2, 3). В некоторых местах пелликулы располагаются своеобразные инвагинации внешней мембраны — микропоры (рис. 3, *3, 4*). Диаметр микропоры равен 30 нм, глубина — 80 нм.

Кинетосомы жгутиков имеют обычное строение и достигают длины 0,6 мкм. Базальная часть кинетосомы окружена осмиофильным материалом. На попереч-



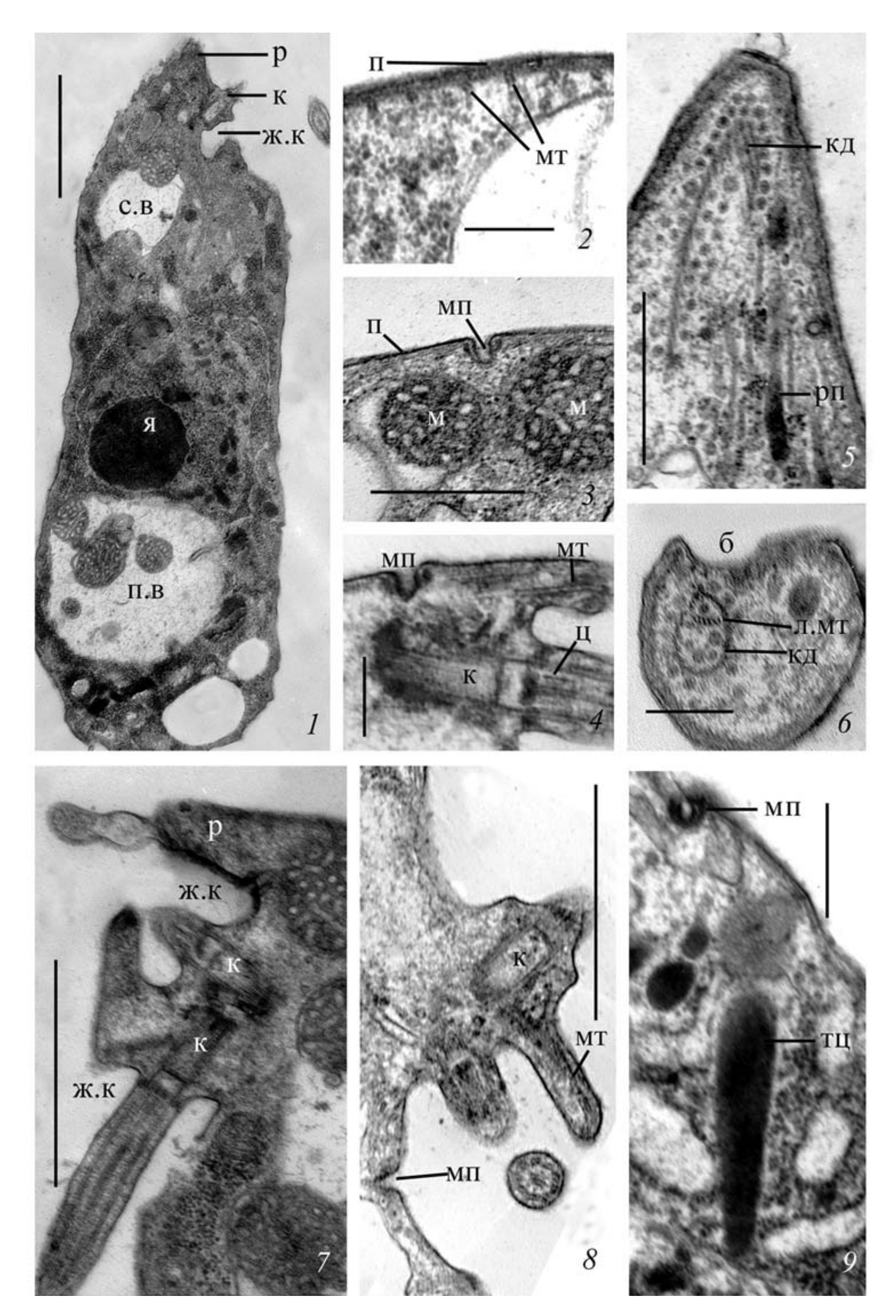

Условные обозначения: ж.к — жгутиковый карман. Остальные обозначения как на рис. 1.

Рис. 2. Морфология *C. pseudoedax*: (*1–3, 7, 8* — световой микроскоп; *4–6* — СЭМ): *1–6* — форма клеток плавающих особей; *7* — циста покоя; *8* — оболочка цисты после экцистирования. Масштабная линейка: *1* — *5* — 5 мкм; *6* — 1 мкм; *7, 8* — 2 мкм.

Fig. 2. The morphology of *C. pseudoedax*: (*1–3, 7, 8* — light microscope; *4–6* — SEM): *1–6* — the cell shape of swimming individuals; *7* — a rest cyst; *8* — the cyst wall after excystation. Scale bar: *1–5* — 5 mkm; *6* — 1 mkm; *7, 8* — 2 mkm.

ной пластинке располагается аксосома и начинаются центральные микротрубочки жгутика. Короткий тонкостенный цилиндр лежит выше поперечной пластинки (рис. 3, *4*). В роструме проходит конусовидный коноид (по: Foissner, Foissner, 1984; Simpson, Patterson, 1996), состоящий из 23–25 микротрубочек (рис. 3, *5*). Коноид окружен мелкими гранулами. Длина коноида равна 1,3–1,4 мкм, диаметр его переднего конца составляет 0,20–0,25 мкм. На поперечном срезе коноида видно, что коноид не замкнут в кольцо (рис. 3, *6*). В полости коноида лежит лента, содержащая 5 микротрубочек. В переднем конце клетки проходят булавовидные роптрии длиной 1,2 мкм (рис. 3, *5*). Острый конец роптрии имеет диаметр 30–40 нм, а утолщенный — 90–100 нм. Длина роптрий составляет 0,55–0,60 мкм.

Кинетосомы жгутиков расположены под прямым углом друг к другу (рис. 3, *7, 8*). Два жгутиковые кармана разделены складкой, внутри которой проходят микротрубочки. Митохондрии длиной 0,5 — 1,2 мкм имеют овальную форму и содержат трубчатые и везикулярные кристы, а также темный матрикс (рис. 3, *3, 7*). Аппарат Гольджи имеет обычное строение (не показан). В пелликулу изнутри упираются стрекательные органеллы длиной 0,9 мкм, называемые здесь трихоцистами (по терминологии: Brugerolle, Mignot, 1979; рис. 3, *9*). На поперечном срезе трихоциста представляет собой квадрат или ромб с ребром 0,16–0,18 мкм (не показано). Нижний конец трихоцисты сужен, а верхний несет шаровидную мелкогранулярную головку. Место образования трихоцист не выяснено. Корешковая система жгутиков будет рассмотрена авторами в отдельной статье.




Условные обозначения: к — кинетосома; кд — коноид; л.мт — лента микротрубочек; м — митохондрия; мп — микропора; мт — микротрубочки; п — пелликула; рп — роптрии; тц — трихоциста; ц — цилиндр.

Рис. 3. Ультраструктура клетки *C. pseudoedax: 1* — продольный срез; *2, 3* — пелликула; *4* — жгутик; *5* — рострум; *6* — коноид; *7, 8* — кинетосомы жгутиков; *9* — трихоциста. Масштабная линейка: *1*, 3 — 1 мкм; *2, 5* — 0,5 мкм; *4* — 0,2 мкм; *6* — 0,3 мкм; *7, 8* — 1 мкм; *9* — 0,25 мкм.

Fig. 3. The ultrastructure of *C. pseudoedax*: *1* — longitudinal section; *2, 3* — pellicle; *4* — flagellum; *5* — rostrum; *6* — conoid; *7, 8* — flagellar kinetosomes; *9* — trichocyst. Scale bar: *1*, 3 — 1 mkm; *2, 5* — 0,5 mkm; *4* — 0,2 mkm; *6* — 0,3 mkm; *7, 8* — 1 mkm; *9* — 0,25 mkm.

## Обсуждение

Полученные данные позволяют рассматривать исследованного жгутиконосца как представителя рода *Colpodella*. Основным признаком служит здесь особый способ питания этих хищников посредством высасывания цитоплазмы жертвы (Simpson, Patterson, 1996). У клона BE–2 обнаружены также главные ультраструктурные признаки представителей этого рода: неполный апикальный комплекс (трехслойная пелликула, микропоры, микротрубочковый коноид, субпелликулярные микротрубочки) и трихоцисты.

Наше исследование показало, что у клеток клона BE–2 есть продольная складка и неглубокая бороздка как у *Colpodella edax* Simpson, Patterson, 1996 (рис. 1, *10, 11*) (Мыльников, 1988; Simpson, Patterson, 1996). Меньшего размера складки известны у морских колподеллид (Simpson, Patterson, 1996; Patterson, Simpson, 1996), тогда как у пресноводного *C. angusta* Simpson et Patterson, 1996 складка на теле отсутствует (Мыльников, 1991) Клон BE–2 отличается от двух пресноводных видов *Colpodella perforans* Patterson et Zölffel, 1991 и *C. gonderi* Simpson et Patterson, 1996 по спектру питания, так как последние являются эктопаразитами соответственно криптомонад *Chilomonas paramecium* Ehrenberg, 1832 и инфузорий из рода *Colpoda* Müller, 1773 (Brugerolle, Mignot, 1979; Foissner, Foissner, 1984) и не нападают на мелких жгутиконосцев. Эктопаразитом инфузорий является также и *C. tetrahymenae* Cavalier-Smith et Chao, 2004 (Cavalier-Smith et Chao, 2004).

Обращает на себя внимание наибольшее морфологическое сходство клона BE–2 и *C. edax* (сравни рис. 1, *1–4* и рис. 1, *10–12*). То же относится и к ультраструктурному сходству. Так у этих жгутиконосцев пять микротрубочек проходят внутри коноида, стрекательными органеллами являются трихоцисты, одна из лент микротрубочек проходит внутри складки, разделяющей два жгутиковых кармана (Мыльников, 1988; Мыльников и др., 1998). Сходными у них оказываются бобовидная или овальная форма тела, питание бесцветными хризомонадами, а также наличие продольных складки и бороздки, крупной сократительной вакуоли на переднем конце клетки, наличие крупной задней пищеварительной вакуоли (Klebs, 1892; Hänel, 1979; Мыльников, 1988). Основным отличием клона BE–2 является размножение клеток посредством продольного деления, а не деление внутри цисты на четыре дочерние особи как у *C. edax*. Кроме того, клетки клона BE–2 образуют цисты покоя, которые неизвестны у *C. edax*. Длина клеток *C. edax* достигает 10–18 мкм, а ширина — 5–10 мкм, что примерно в 1,5 раза больше, чем у клона. Таким образом, у клона BE–2 есть определенные различия с видами рода *Colpodella*, что позволяет описать его как новый вид.

**Отряд COLPODELLIDA** Cavalier-Smith, 1993

**Семейство COLPODELLIDAE** Simpson et Patterson, 1996

***Colpodella pseudoedax*** Mylnikov et Mylnikov, **sp. n.** (рис. 1, *1*)

Материал. Голотип — препарат № 533 и синтипы (препараты № 534 и № 535) хранятся в лаборатории микробиологии Института биологии внутренних вод РАН (Борок). Впервые обнаружен из донных проб небольшого пруда вблизи пос. Борок, Ярославской обл. (Россия) 13.05.02, 58°03'N 38°14'E.

Диагноз. Форма тела клетки бобовидная или овальная с заостренным передним концом. Передний жгутик равен 1/3–1/2 длины тела и направлен латерально или вперед. Два гетеродинамичных жгутика выходят из раздельных карманов субапикально. Задний жгутик на 1/3 длиннее тела клетки и проходит

вдоль вентральных бороздки и складки. Неглубокая продольная бороздка ограничена. Длина клеток составляет 7—10 мкм, ширина — 3—5 мкм. Оба жгутика отходят немного ниже заостренного переднего конца клетки (рострума). Ядро и крупная сократительная вакуоль располагаются ниже рострума. Пищеварительная вакуоль в заднем конце клетки. Размножение продольным делением надвое. Одноядерные сферические цисты покоя диаметром 5,0—6,7 мкм. Стрекательные органеллы типа трихоцист.

Замечания. Сходен по форме тела, наличию продольных бороздки и складки и питанию с пресноводным *C. edax* и отличается от него отсутствием цисты размножения и меньшими размерами, а также наличием одноядерных цист покоя.

Распространение. Редкий. Позднее отмечен в донных пробах р. Волги вблизи г. Астрахань, 20.05.06 (Алешин) (МГУ НИИФХБ).

Этимология. Видовое имя *pseudoedax* (лат. ложный *edax*) указывает на сходство с видом *C. edax.*

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 05—04—48180 и 06—04—49288.

*Жуков Б. Ф.* Атлас пресноводных гетеротрофных жгутиконосцев (биология, экология и систематика). — Рыбинск : Рыбинский Дом Печати, 1993. — 160 с.

*Мыльников А. П.* Питание хищных зоофлагеллят // Биология внутренних вод : Информ. бюл. — 1983. — № 60. — С. 33-37.

*Мыльников А. П.* Биология хищного жгутиконосца Bodo edax Klebs // Биология внутренних вод : Информ. бюл. — 1988. — № 77. — С. 28—31.

*Мыльников А. П.* Ультраструктура и биология некоторых представителей отряда Spiromonadida (Protozoa) // Зоол. журн. — 1991. — **70**, вып. 7. — С. 5—15.

*Мыльников А. П., Мыльникова З. М., Цветков А. И.* Тонкое строение хищного жгутиконосца Colpodella edax // Биол. внутр. вод. — 1998. — № 3. — С. 3—11.

*Brugerolle G.* Colpodella vorax: ultrastructure, predation, life-cycle, mitosis, and phylogenetic relationships // Europ. J. Protistol. — 2002. — **38**. — P. 113—125.

*Brugerolle G., Mignot J. P.* Observations sur le cycle l'ultrastructure et la position systematique de Spiromonas perforans (Bodo perforans Hollande 1938), flagelle parasite de Chilomonas paramaecium: ses de relations avec les dinoflagelles et sporozoaires // Protistologica. — 1979. — **15**. — P. 183—196.

*Cavalier-Smith T., Chao E. E.* Protalveolate phylogeny and systematics and the origins of Sporozoa and dinoflag-ellates (phylum Myzozoa nom. nov.) // Europ. J. Protistol. — 2004. — **40**. — P. 185—212.

*Foissner W., Foissner I.* First record of an ectoparasitic flagellate on ciliates: an ultrastructural investigation of the morphology and the mode of attachment of Spiromonas gonderi nov. spec. (Zoomastigophora, Spiromonadidae) invading the pellicle of ciliates of the genus Colpoda (Ciliophora, Colpodidae) // Protistologica — 1984. — **20**. — P. 635—648.

*Hänel K.* Systematik and Ökologie der farblosen flagellaten des Abwassers // Arch. Protistenk. — 1979. — **121**. — S. 73—137.

*Klebs G.* Flagellatenstudien // Zeitschrift für wissenschaftiche zoologie — 1892. — **55**. — S. 265—445.

*Patterson D. J., Simpson A. G. B.* Heterotrophic flagellates from coastal marine and hypersaline sediments in Western Australia // Europ. J. Protistol. — 1996. — **32**. — P. 423—448.

*Simpson A. G. B., Patterson D. J.* Ultrastructure and identification of the predatory flagellate Colpodella pugnax Cienkowski (Apicomplexa) with a description of Colpodella turpis n. sp. and a review of the genus // Systematic Parasitology. — 1996. — **33**. — P. 187—198.